



転移リンパ節モデルに対する低出力超音波と微小気泡を用いた薬剤導入法に関する研究

著者	佐藤 琢磨
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第15645号
URL	http://hdl.handle.net/10097/58364

博士論文題目

転移リンパ節モデルに対する低出力超音波と微小気泡を用いた薬剤導入法に関する研究

東北大学大学院医学系研究科 専攻

外科病態学 講座 泌尿器科学 分野

氏名 佐藤琢磨

リンパ節転移はがん患者の予後に大きな影響を与える因子であり、リンパ節転移を有する症例に対しては、現在抗がん剤による治療が広くおこなわれている。しかし、現状では十分な奏効率を得られていない。その原因のひとつとして、抗がん剤の全身投与では薬剤がリンパ系へ十分送達されないことがあげられており、リンパ系を標的とした新たな薬剤送達法の開発が求められている。

微小気泡と低出力超音波を用いた薬物送達法は、低出力超音波を微小気泡に照射することで、微小気泡に隣接する細胞の膜透過性を亢進させ、抗がん剤や遺伝子などの外来分子を細胞内に導入する方法であり、非侵襲性、非免疫原性および組織特異性に優れている。

本研究では生後 3 か月程度でリンパ節がヒトと同様の大きさである短径 10 mm 程度まで腫脹する MXH10/Mo-*lpr/lpr* マウスを使用して、腸骨下リンパ節に腫瘍細胞を移植し転移リンパ節モデルを作製した。この転移リンパ節モデルに対し、腫瘍細胞を移植したリンパ節（担がんリンパ節）への薬剤投与および、微小気泡と低出力超音波を用いた薬剤送達法の有効性を検討することを目的とする。

本研究では 3 種類の細胞株（KM-Luc/GFP 細胞、FM3A 細胞、MH129F 細胞）を用いた。また、抗がん剤として CDDP (*cis*-diamminedichloro-platinum(II)) を、微小気泡としてナノ・マイクロバブルを用いた。超音波トランスデューサーは、周波数 1 MHz、直径は 12 mm および 30 mm のものを用いた。超音波強度は細胞実験では $0.1 - 1.0 \text{ W/cm}^2$ 、動物実験では 3.0 W/cm^2 に調整し、照射した。

まず、細胞実験において微小気泡存在下における低出力超音波照射が CDDP の抗腫瘍効果を増強させることとし、腫瘍細胞のアポトーシスが誘導されることを示した。

つぎに動物実験において、CDDP と微小気泡を静脈注射もしくは担がんリンパ節に直接投与した後に低出力超音波を照射し、治療効果を生体発光イメージング装置を用いて測定した。この結果、担がんリンパ節への直接投与では CDDP の抗腫瘍効果が得られ、微小気泡存在下での低出力超音波照射による CDDP の抗腫瘍効果の増強が認められた。一方、CDDP の静脈注射では CDDP の抗腫瘍効果が得られず、微小気泡と低出力超音波照射による CDDP の抗腫瘍効果の増強も認められなかった。また、造影高周波超音波診断装置を用いて腫瘍増殖にともなう担がんリンパ節の大きさおよび血管密度を経時的に測定し、血管密度およびリンパ節体積の減少が抗腫瘍効果を反映している可能性を示した。各治療群の抗腫瘍効果を病理切片（ヘマトキシリン＝エオジン染色）で確認し、CD31 による免疫染色を用いて病理切片での血管密度と造影高周波超音波診断装置で測定した血管密度と比較した。これらの結果から、以下の 1)~3) が判明した。1) CDDP の担がんリンパ節への直接投与によって高い抗腫瘍効果が得られた。2) 微小気泡存在下での低出力超音波照射により CDDP の抗腫瘍効果が増強された。3) 造影高周波超音波診断装置を用いた担がんリンパ節の体積および血管密度を測定することにより、低侵襲かつリアルタイムに治療効果が判定が可能であった。

本研究はリンパ系への直接の薬剤投与、および微小気泡と低出力超音波照射を用いた薬剤送達法を併用することで、リンパ節内の腫瘍に対する薬剤送達が効率改善することを示しており、今後のリンパ節転移に対する抗がん剤の治療効果の改善に寄与する可能性が示された。